

Development of Raman Analytical Technique for Biological Sample

著者	Anggara Mahardika
URL	http://hdl.handle.net/10236/00028213

氏 名	ANGGARA MAHARDIKA
学位の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	甲理第189号（文部科学省への報告番号甲第691号）
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	2018年12月19日
学位論文題目	Development of Raman Analytical Technique for Biological Sample
論文審査委員	（主査） 教授 松 田 祐 介 （副査） 教授 佐 藤 英 俊 教授 藤 博 幸

論文内容の要旨

本論文は、多糖類であるカラギーナン等の糖類の合成と分解を、藻類の体内で 非破壊的に定量するため、ラマン分光法を基礎とした分析技術を開発することに主眼を置いている。海草から抽出されるカラギーナンは、硫黄を含む多糖類で、毒性の無い安全な増粘剤、ゲル化剤として、食品や化粧品などの製品に利用されている。カラギーナン製造の多くを担う熱帯の海洋プランテーションでは、紅藻のキリンサイ（和名）類を育成するが、抽出によって得られるカラギーナンの重量割合による収量評価以外に、プランテーションでの品質管理に関する研究はほとんど進んでいない。カラギーナンの収量は水温や pH によって影響を受ける他、病気によって大きく収量が低下する。頻繁に生じる病気として海藻の白化をもたらしアイス-アイス病が知られているが、原因が細菌であることしか分かっていない。藻類の組織内におけるカラギーナンの合成や分解に対する感染症菌の影響を詳細に分析できれば、藻類の病気の研究が発展し、海洋プランテーションの品質管理に資する知見を得ることができる。

著者は本研究にラマン分光技術で挑戦した。ラマン分光技術の弱点は観察対象の自家蛍光であり、クロロフィル自家蛍光をもつ植物への応用例は非常に少ない。著者は天日干しされる海草類では光ブリーチングにより色素が分解されるため、蛍光の問題は少ないことを予想した。ラマン分光技術はまた、糖分析への応用が少ない。複雑な組成を持つ長鎖糖類ではスペクトルが複雑になって、解析が困難になるからである。著者は比較的糖組成が単純である藻類を対象に選ぶことによってこの問題を解決し、前例の少ない独創的な多糖分析研究を行っている。

本論文は3章からなる。第1章、2章は技術の開発と検証、第3章は開発技術の応用研究である。第1章は酵素反応によって多糖類が還元糖に分解される反応を、ラマン分光法により定量的に分析する技術の開発について述べている。多成分中の特定成分の定量分析には多変量解析の一種である部分最小二乗回帰分析（PLSR）法を利用した。通常は、試料中のあらゆる成分の変動を想定し、数多くのテスト試料を用いて解析モデルを構築するが、これには大変なコストと時間が必要となる。それに対し、著者はごく小数（7つ）のテストサンプルだけを用いる代わりに、分析対象となる酵素反応を限定し、かつ分析対象の糖類の持つ特定のラマンバンド成分だけを用いることで、モデル構築のコストと時間を減らしても分析精度を確保することができることを示した。第2章ではラマンイメージング技術を用い、藻類の組織内に蓄積されるカラギーナン濃度と分布を3次元的に分析できることを示した。異なる太さの枝や、収量の異なるキリンサイで、カラギーナンの分布パターンがどのように異なるかを調査した。ラマンイメージは一つ一つのピクセルがスペク

トル情報を持つ「ハイパースペクトラルイメージ」で、ピクセル数は数千～数万となるためデータ処理の自動化が必須である。著者は定量的な情報を得るために、専用の多変量解析ソフトウェアを構築して分析を成功させた。第3章は、開発した解析技術を用い、細菌によるキリンサイ組織内のカラギーナン分解反応を研究した。カラギーナンを炭素源として利用できる細菌を単離して特定し、キリンサイ組織内でカラギーナンが分解される様子をその場で定量することに成功した。

論文審査結果の要旨

著者は、ラマン分光分析技術を用い、従来難しいと考えられてきた「植物」中での「糖の定量分析」を実現した。ラマンイメージシステム等の新しい研究測定機器に精通し、独自のアイディアに基づく解析法の提案やソフトウェアの開発等の技術開発を行って目的を達成した。その結果、類例も少ない新規性の高い研究結果を得ることができた。本論文の内容はすでに国際的な学術誌である *Applied Spectroscopy* と *Journal of Applied Phycology* にそれぞれ筆頭著者として論文1報ずつを発表している。また、国際学会で本論文の内容を、主著者として5回ポスター発表している。審査委員は本論文の内容を中心に面接審査と公開の論文発表会を行い、著者が論文内容と用いた技法について十分な理解とともに関連する分野についても学識を有し、また将来の研究遂行に対しても十分な能力を持つことを確認した。英語能力に関しては、博士課程期間中の指導教員との議論、全ての審査過程はもとより、著者自ら英語で論文執筆を行い、国際会議で発表しており、充分であると判定した。以上より、審査委員会は本論文の著者が博士（理学）甲号の学位を授与されるに足る十分な資格を有するものと判定した。